Ueber die Beziehung des Proteus

vulgaris Hsr.

zur

ammoniakalischen Harnstoffzersetzung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt

von

Arnold Brodmeier
aus Schwerborn.

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Februar 1895.

Hamburg.
Buchdruckerei von A. B. Ueberwasser.
1896.

In dankbarer Erinnerung

Herrn

Prof. Dr. G. Hauser

in Erlangen

gewidmet vom Verfasser.

Die bekannte Erscheinung, dass der normale Harn beim Stehenlassen trübe wird, seine saure Reaction allmählich verliert und schliesslich alkalisch reagiert, musste von jeher als eine Zersetzung des Harns angesehen werden.

Pasteur stellte schon 1860 fest, dass der Urin durch Mikroorganismen zersetzt wird. Er brachte in Urin eine mit Luftstaub imprägnierte Asbestplatte und fand sehr bald die Bildung von NH_3 sowie die Entwicklung von Vibrinen, Bakterien und Infusorien.

Glühte er aber die Asbestplatte aus und brachte sie dann in den Urin, so blieb derselbe unzersetzt. Damit hatte Pasteur den Beweis geliefert, dass die ammoniakalische Gährung des Urins die Wirkung von den in der Luft befindlichen und in den Harn gelangten Pilzen ist. Leube und Graser [1]) zeigten durch eine Reihe von Versuchen, dass verschiedene aus der Luft und auch aus zersetztem Urin gewonnene Bakterienarten, namentlich Bacterium ureae und Micrococcus ureae, die ammoniakalische Zersetzung des Harnstoffes bewirken. Er fand ferner, dass auch Kulturen von Lungensarcine den Harnstoff unter Ammoniakentwicklung zersetzten.

Dagegen erwies sich nach den Untersuchungen Leubes der gerade damals von Hauser entdeckte Proteus vulgaris gegen die Harnstofflösungen als völlig unwirksam. [2])

Im Gegensatze hierzu ergaben neuere Untersuchungen von J. Schnitzler[3]) und Hofmeister,[4]) dass Proteus den Harnstoff ganz energisch zersetzte.

Bei diesem Widerspruch der Autoren erschien es daher nothwendig, dass über die Frage „zersetzt Proteus den Harnstoff oder nicht", weitere Untersuchungen angestellt würden.

---

[1]) W. Leube, Ueber die ammoniakalische Harngährung, Virchows Archiv, Bd. 100, S. 540, 1885.

[2]) l. c. S. 555.

[3]) J. Schnitzler, Zur Aetiologie der Cystitis, Wien 1892. Verlag von Braumüller.

[4]) Hofmeister, Zur Charakteristik des Eklampsie - Bacillus. Gerdes. Fortschr. der Med. 1892.

Ich habe daher auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Hauser zur Klärung dieser Frage eine grössere Versuchsreihe angestellt, welche in Folgendem geschildert werden sollen.

Bevor die eigentliche Frage, ob Proteus den Harnstoff zersetzt, in Angriff genommen werden konnte, war es in diesem Falle nothwendig, eine Reihe von Voruntersuchungen anzustellen. Da nämlich einerseits selbstverständlich nur mit durch Erhitzen sterilisirten Harnstofflösungen gearbeitet werden konnte, andererseits aber der Harnstoff durch anhaltendes Erhitzen mit Wasser über 100°, wie bekannt, in seine Componenten:

$$CO\begin{matrix}-NH_2\\-NH_2\end{matrix} + H_2O = CO_2 + 2NH_3$$

Harnstoff Wasser Kohlensäure Ammoniak

zerlegt wird, war es nothwendig zu bestimmen, ob bei Einwirkung der Hitze der Harnstoff völlig oder nur ein Theil desselben zersetzt wird und ob die Zersetzung zur Sterilisirungszeit in einem procentualen Verhältniss steht. Zu diesem Zweck wurden Harnstoff-Lösungen von bestimmter Concentration in sterilisirten Erlemeyer-Kölbchen, welche mit einem Wattepfropfen gut verschlossen waren, im Dampftopf bei 100° eine halbe Stunde lang erhitzt.

Zur Verwendung gelangt vollkommen chemisch reiner Harnstoff. Um den Harnstoff von jeder Spur Ammoniak zu befreien, wurde derselbe in Nitrat verwandelt, dreimal aus Salpetersäure umkrystallisiert und das reine Nitrat wieder in Harnstoff verwandelt. Die Salpetersäure wird an Baryt gebunden, der überschüssige Baryt mit CO_2 gefällt, das Baryumcarbonat abfiltrirt und das Filtrat zur Trockene eingedampft. Dem Gemenge von Harnstoff und Baryumnitrat wird durch heissen Alkohol der Harnstoff entzogen. Der so gewonnene Harnstoff wird noch dreimal aus Alkohol umkrystallisiert und auf dem Wasserbade vorsichtig getrocknet.

Auf diese Weise wird der Harnstoff vollkommen rein und ammoniakfrei.

Von diesem reinen Harnstoff wurde eine 10%, 5% und 1% wässerige Lösung dargestellt, in bei 160°—170° sterilisirte Erlemeyer-Kölbchen gebracht und im Dampftopf bei 100° und verschiedener Zeitdauer sterilisirt.

Die chemische Untersuchungs-Methode zur Bestimmung des zersetzten Quantums Harnstoff geschah nach der Liebig-Pflüger'schen Titrirmethode.

Mit einer Reihe von Salzen geht der Harnstoff krystallisierende Verbindungen ein, wie zum Beispiel mit Mercurinitrat. Auf der Bildung dieses Salzes beruht die quantitative Bestimmung des Harnstoffes nach Liebig, welche von Pflüger noch verbessert wurde. Der unzersetzte Harnstoff wird titrirt. Als Indicator dient eine Lösung von kohlensaurem Natron, die End-

reaction, resp. ein Ueberschuss von Quecksilbersalz giebt sich durch einen gelben Niederschlag von gelben Quecksilberoxyd kund, während die weisse Harnstoffquecksilber-Verbindung seine Farbe nicht verändert. Die Mercurinitrat-Lösung wurde so eingestellt, dass genau 1. Cc. derselben = 0,01 gr. Harnstoff entsprach.

Durch verschiedene Versuche war ebenfalls die erforderliche Sodalösung zur Neutralisation der freien Salpetersäure bestimmt, welche mittelst Bürette hinzugefügt wurde. Auf diese Weise wurden genaue Resultate erzielt, was ebenfalls die Controlversuche bewiesen. Der chemische Vorgang dieser Titrirmethode erfolgt nach folgender Gleichung:

$$2\,CO(NH_2)_2 + 4Hg(NO_3)_2 + 3H_2O$$
$$= 2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 3\,HgO + 6\,NO_3H$$

Der durch die Titration bestimmte Harnstoff wird von der Harnstoff-Menge, welche bei dem Versuch zur Verwendung kam, subtrahiert und die Differenz ist gleich dem zersetzten Harnstoff. Ein Controlversuch wurde noch ausgeführt, indem das Ammoniak, welches sich bei der Zersetzung bildet, mittelst Normalsalzsäure und Cochenilletinktur titrirt und in Harnstoff umgerechnet wurde.

Das Resultat war dasselbe.

Bei den Versuchen wurden folgende Resultate erzielt:

I. Versuch mit einer 10% Lösung.

a.	2,0	$CO^{-NH_2}_{-NH_2}$	+	20,0	H_2O,	20	Minuten	sterilisirt	= 10,66%	H. zersetzt
b.	2,0	„	+	20,0	„	20	„	„	= 10,66%	„ „
c.	2,0	„	+	20,0	„	30	„	„	= 12,16%	„ „
d.	2,0	„	+	20,0	„	30	„	„	= 12,18%	„ „
e.	2,0	„	+	20,0	„	60	„	„	= 16,33%	„ „
f.	2,0	„	+	20,0	„	60	„	„	= 16,33%	„ „

II. Versuch mit einer 5% Lösung.

a.	1,0	$CO^{-NH_2}_{-NH_2}$	+	20,0	H_2O,	20	Minuten	sterilisirt	= 10,66%	H. zersetzt
b.	1,0	„	+	20,0	„	20	„	„	= 10,65%	„ „
c.	1,0	„	+	20,0	„	30	„	„	= 12,16%	„ „
d.	1,0	„	+	20,0	„	30	„	„	= 12,17%	„ „
e.	1,0	„	+	20,0	„	60	„	„	= 16,33%	„ „
f.	1,0	„	+	20,0	„	60	„	„	= 16,33%	„ „

III. Versuch mit einer 1% Lösung.

a.	0,5	$CO^{-NH_2}_{-NH_2}$	+	50,0	H_2O,	25	Minuten	sterilisirt	= 11,04%	H. zersetzt
b.	0,5	„	+	50,0	„	25	„	„	= 11,04%	„ „
c.	0,5	„	+	50,0	„	40	„	„	= 13,33%	„ „
d.	0,5	„	+	50,0	„	40	„	„	= 13,33%	„ „
e.	0,5	„	+	50,0	„	60	„	„	= 16,34%	„ „
f.	0,5	„	+	50,0	„	60	„	„	= 16,33%	„ „

IV. Versuch mit einer 1% Lösung.

a.	0,5	$CO^{-NH_2}_{-NH_2}$	+	50,0	H_2O,	20	Minuten	sterilisirt	= 10,66% H. zersetzt
b.	0,5	„	+	50,0	„	20	„	„	= 10,66% „ „
c.	0,5	„	+	50,0	„	25	„	„	= 11,04% „ „
d.	0,5	„	+	50,0	„	25	„	„	= 11,03% „ „
e.	0,5	„	+	50,0	„	30	„	„	= 12,18% „ „
f.	0,5	„	+	50.0	„	30	„	„	= 12,18% „ „
g.	0,5	„	+	50,0	„	40	„	„	= 13,33% „ „
h.	0,5	„	+	50,0	„	40	„	„	= 13,33% „ „
i.	0,5	„	+	50,0	„	60	„	„	= 16,33% „ „
k.	0,5	„	+	50,0	„	60	„	„	= 16,34% „ „

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, dass die Zersetzung des Harnstoffes beim Sterilisiren im Dampftopf bei 100° eine ganz gleichmässige bleibt und in einem völlig procentualen Verhältniss steht. Um ferner noch zu bestimmen, ob beim Verweilen der Harnstoff-Lösung im Brutschrank noch eine Spontanzersetzung zu Stande käme, wurde noch folgender Versuch gemacht.

Von fünf zusammen sterilisirten Kölbchen, welche alle eine 1% Harnstoff-Lösung enthielten und 30 Minuten lang im Dampftopf bei 100° sterilisirt waren, wurden drei Kölbchen in den Brutschrank gestellt und 24 Stunden darin stehen gelassen, während die beiden anderen sofort nach dem Sterilisiren analysiert wurden. Die Analyse dieser zwei Kölbchen, welche also nicht im Brutschrank gestanden, ergab eine Zersetzung von 12,16% Harnstoff, während die Analyse der drei Kölbchen, welche 24 Stunden im Brutschrank gestanden hatten, ebenfalls nur eine Zersetzung von 12,16% Harnstoff zeigte. Dieser Versuch, welcher nochmals mit fünf anderen Kölbchen in derselben Weise wiederholt wurde und dasselbe Resultat ergab, zeigte, dass durch das Stehen im Brutschrank keine weitere Zersetzung eintritt.

Um ganz sicher zu gehen, dass die auf die angeführte Art sterilisirte Harnstoff-Lösung auch vollkommen keimfrei war, wurden von der 30 Minuten lang im heissen Dampf von 100° sterilisirten Lösung zwei Gelatineplattengüsse angefertigt. Einer derselben blieb 24 Stunden und der andere 8 Tage lang stehen, wobei jedoch bei beiden nichts aufgegangen war.

Nach diesen constanten Vorversuchen konnte zur eigentlichen Aufgabe übergegangen werden. Zu diesem Zwecke

wurden Kölbchen folgender Art verwandt. Gewöhnliche Rundkölbchen wurden unten an der Seite mit einem circa 5 Centimeter langen Röhrchen versehen, durch welches Proteus eingeführt werden konnte, ohne den Wattepfropfen lüften zu müssen. Bei allen folgenden Versuchen wurde eine 1% Harnstoff-Lösung verwandt.

Nach dem Ergebnis dieser Voruntersuchung war man also berechtigt, mit bei 100° sterilisirten Lösungen zu arbeiten

bei gleichzeitiger Vornahme von Controlversuchen, denn nach Subtraction des im Controlversuch zersetzten Quantums musste der Rest der Harnstoff-Zersetzung der Proteus-Wirkung zugeschrieben werden.

Nach Abschluss der einzelnen Versuche wurden jedesmal die mit Proteus geimpften Harnstoff-Lösungen durch das Culturverfahren auf die in derselben anwesenden Bacterien geprüft; ausnahmslos ergab sich die Anwesenheit von Proteus vulgaris in Reincultur, so dass also die Wirkung anderer Bacterienarten ausgeschlossen war.

I. Versuch.

Fünf Kölbchen (a, b, c, d, e), welche je 100 Cbc. einer 1% Harnstoff-Lösung enthielten, wurden 30 Minuten lang im Dampftopf bei 100° sterilisirt. Nach dem Erkalten wurden in Kölbchen b, c, d und e durch das seitliche Röhrchen je zwei Platinoesen einer Agar-Reincultur Proteus eingeführt. Diese 4 geimpften Kölbchen kamen in den Brutschrank und blieben 24 Stunden darin. Die Analyse des Kölbchens a, welches als Controlversuch diente, ergab eine Zersetzung von 12,16% Harnstoff. Das Resultat dieses Versuches ergiebt sich aus folgender Tabelle.

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlversuch nicht geimpft	a. 12,16			
Mit Proteus geimpft	b. 12.16	20,42	8,26	neutral
	c. 12,16	20,26	8,10	„
	d. 12,16	20,70	8,54	„
	e. 12,16	20,64	8,48	„

Versuch II.

Vier Kölbchen (a, b, c, d) Harnstoff-Lösung wurden 30 Minuten lang im Dampf bei 100° sterilisirt, nachdem der Inhalt der Kölbchen b—d mit Na_2CO_3 schwach alkalisch gemacht worden war. Nach dem Erkalten wurden Kölbchen b, c, d, mit je 2 Oesen Proteus geimpft und 12 Stunden in den Brutschrank gestellt. Kölbchen a diente als Controlversuch und ergab eine Harnstoff-Zersetzung von 12,18%. Das Quantum, welches in Kölbchen b, c, d mehr war, musste der Proteus-Wirkung zugeschrieben werden. Das Resultat der Analyse ist aus nachfolgender Tabelle ersichtlich.

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung.
Controlversuch nicht geimpft	a. 12,18			
Mit Proteus geimpft	b. 12,18	20,94	8,76	alkalisch
	c. 12,18	21,24	9,06	„
	d. 12,18	21,59	9,41	„

Versuch III.

Bei diesem Versuche wurden die vier Kölbchen in derselben Weise wie bei Versuch II behandelt, jedoch blieben dieselben nicht wie bei Versuch II 12 Stunden im Brutschrank, sondern 24 Stunden. Im Controlkölbchen waren 12,18% Harnstoff zersetzt. Die Zersetzung der übrigen Kölbchen ergiebt sich aus folgender Tabelle.

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung.
Controlversuch nicht geimpft	a. 12,18			
Mit Proteus geimpft	b. 12,18	23,78	11,60	alkalisch
	c. 12,18	23,14	10,96	„
	d. 12,18	24,04	11,86	„

Versuch IV.

Fünf Kölbchen (a, b, c, d, e) enthielten je 100 Cc. Harnstoff-Lösung, welche mit kohlensaurem Natron schwach alkalisch gemacht worden war. Ferner wurde den Kölbchen b—e noch je 1% Pepton zugesetzt, um eine für Proteus günstigere Nährlösung zu erhalten und um zu beobachten, ob in diesem Falle die Zersetzungs-Fähigkeit des Proteus vielleicht noch eine Steigerung erfahre. Alle 5 Kölbchen wurden 30 Minuten lang im Dampf bei 100° sterilisirt. Nach dem Erkalten wurden in Kölbchen b, c, d und e je 2 Platinoesen Proteus eingeführt und diese Kölbchen 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach 6 Stunden war durch die lebhafte Vermehrung des Proteus

bereits eine deutliche Trübung eingetreten. Die Analyse des Kölbchen a, welche gleich nach dem Sterilisiren vorgenommen war, zeigte, dass 12,17% Harnstoff während des Sterilisirens zersetzt waren. Bei der Analyse der anderen vier Kölbchen kam das Pepton weiter nicht in Betracht, da nicht das gebildete Ammoniak bestimmt wurde, sondern der unzersetzt gebliebene Harnstoff. Die Resultate dieses Versuches zeigt folgende Tabelle:

		Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung.
Controlversuch nicht geimpft	a.	12,17			
Mit Proteus geimpft	b.	12,17	25,21	13,04	alkalisch
	c.	12,17	24,99	12,82	„
	d.	12,17	25,81	13,64	„
	e.	12,17	25,11	12,94	„

Das Resumé dieser Versuche zeigt, dass Proteus den Harnstoff sowohl in neutraler, als auch in alkalischer Lösung zersetzt. In alkalischer Lösung geht die Zersetzung rascher vor sich als in neutraler. Noch günstiger für Proteus ist eine peptonhaltige Harnstofflösung.

Versuch V.

Bei diesem Versuche kamen gleichfalls fünf Kölbchen zur Verwendung, und zwar enthielt Kölbchen a nur die als Controlversuch dienende Harnstoff-Lösung. Kölbchen b—e erhielten als Zusatz einhalb Procent Kochsalz und d und e wurden mit Na_2CO_3 noch schwach alkalisch gemacht. Der Salz-Zusatz bei diesem Versuche, sowie bei allen weiteren Versuchen, geschah, um zu sehen, ob Anwesenheit von Salzen von Einfluss auf die Zersetzung ist.

Alle 5 Kölbchen wurden 30 Minuten lang im heissen Dampf von 100° sterilisirt. Nach dem Erkalten wurden in Kölbchen b—e je 2 Oesen Proteus eingeführt, während Kölbchen a gleich analysiert wurde. Die Analyse zeigte, dass darin 12,16% Harnstoff zersetzt waren. Die übrigen 4 Kölbchen wurden in den Brutschrank gestellt. Nach 6 Stunden war in den Kölbchen d und e, deren Inhalt schwach alkalisch war, bereits eine Trübung eingetreten, ein Beweis, dass in diesen Kölbchen bereits ein Wachsthum eingetreten war. In Kölbchen

b und c, deren Inhalt schwach sauer war, konnte eine Trübung erst nach 18 Stunden constatiert werden. Die Analyse der Kölbchen b, c, d und e wurde nach 24stündlichem Stehen im Brutschrank gemacht.

Da die Chlorverbindungen des Harns auf die Titration von störenden Einfluss sind, indem sie das Mercurinitrat theilweise in Quecksilberchlorid, welches Harnstoff nicht fällt, verwandeln, so müssen dieselben entfernt werden, was durch $AgNO_3$ geschieht. Man setzt bei gelindem Erwärmen vorsichtig Silbernitrat hinzu. wobei das Chlornatrium als Chlorsilber niederfällt und dann, abfiltrirt wird. Die Titration erfolgt dann wie früher angegeben. Die Resultate zeigt folgende Tabelle:

		Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlkölbchen nicht geimpft	a.	12,16			
Mit Proteus geimpft	b.	12,16	17,88	5,72	sauer
	c.	12,16	18,69	6,53	„
	d.	12,16	24,56	12,40	alkalisch
	e.	12,16	25,12	12,96	„

Dieser Versuch zeigt, dass Proteus den Harnstoff auch in saurer Lösung zersetzt, wobei er dieselbe allmählich neutralisirt und schliesslich alkalisch macht. Doch ist die Zersetzung in der sauren Lösung wesentlich verlangsamt.

Versuch VI.

Fünf Kölbchen kamen zur Verwendung, wovon in vier Kölbchen ein Zusatz von $^1/_{10}$% saures phosphorsaures Natrium kam. Alle fünf Kölbchen wurden 30 Minuten lang im heissen Dampf von 100° sterilisirt. In Kölbchen b, c, d, e wurden nach dem Erkalten je 2 Oesen Proteus eingeführt, worauf diese 24 Stunden in den Brutschrank kamen. Die Lösungen blieben während des Stehens im Brutschrank vollkommen klar und behielten ihre saure Reaction. Im Controlkölbchen waren 12,19% Harnstoff zersetzt. Bevor bei diesem Versuche der Harnstoff titrirt werden konnte, musste zuvor die Phosphorsäure entfernt werden, was mittelst Barytlösung geschah. Die Barytlösung wird bereitet, indem man 1 Volumen kalt gesättigte Baryumnitratlösung mit 2 Volumen kalt gesättigte Baryumhydroxyd-Lösung mischt.

Von dieser Barytlösung wurde ein gleiches Volumen in das Kölbchen gegeben und eine Stunde stehen lassen, danach durch ein trocknes Filter filtrit. Hierauf wurde das Filtrat nach der Liebig-Pflüger'schen Methode titrirt. In den Kölbchen b—e waren 12,19% Harnstoff zersetzt. Es war also nach dem Zusatz von saurem phosphorsaurem Natrium keine Zersetzung durch Proteus eingetreten. Dieser Versuch wurde nochmals mit 5 anderen Kölbchen wiederholt, jedoch ebenfalls wieder mit negativem Erfolg.

Versuch VII.

Von fünf Kölbchen (a, b, c, d, e) wurde in vier (b, c, d, e) je ein Zusatz von $^1/_{10}$% Magnesiumsulfat gemacht, worauf alle fünf 30 Minuten lang bei 100° sterilisirt wurden. Die Lösungen waren alle neutral. Kölbchen a wurde nach dem Sterilisiren in der angeführten Art analysiert, wobei sich eine Zersetzung von 12,16% Harnstoff zeigte. Kölbchen b, c, d und e wurden mit je 2 Oesen Proteus geimpft und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach 24 Stunden wurde die Analyse ausgeführt. In diesem Falle musste erst die H_2SO_4 entfernt werden, was ebenfalls mittelst Barytlösung geschah, in gleicher Weise wie beim vorigen Versuche bei Entfernung der Phosphorsäure. Die Resultate der Analyse gehen aus folgender Tabelle hervor:

		Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung.
Controlkölbchen nicht geimpft	a.	12,16			
Mit Proteus geimpft	b.	12,16	19,34	7,18	neutral
	c.	12,16	19,10	6,94	„
	d.	12,16	18,74	6,58	„
	e.	12,16	19,24	7,08	„

Versuch VIII.

Zur Verwendung kamen fünf Kölbchen (a, b, c, d, e) wovon a die reine Harnstofflösung enthielt, während die übrigen Kölbchen je einen Zusatz von 1% Pepton und 0,5% Kochsalz erhielten. Alle Lösungen reagierten neutral und wurden 30 Minuten sterilisirt. Kölbchen b—e wurden mit je 2 Oesen Proteus geimpft und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Wie das Controlkölbchen a bei der Analyse zeigte, waren während des Sterilisirens 12,18%

Harnstoff zersetzt. Bevor die Analyse der Kölbchen b, c, d und e vorgenommen werden konnte, wurde, wie bei Versuch V das Na Cl mittelst Ag NO_3 entfernt und dann der unzersetzt gebliebene Harnstoff wie bei Versuch IV bestimmt. Die Resultate giebt folgende Tabelle an:

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung.
Controlkölbchen nicht geimpft	a. 12,18			
Mit Proteus geimpft	b. 12,18	31,14	18,96	neutral
	c. 12,18	31,50	19,32	„
	d. 12,18	31,32	19,14	„
	e. 12.18	30,76	18,58	„

Versuch IX.

Dieser Versuch wurde in derselben Weise wie Versuch VIII ausgeführt, jedoch wurden bei diesem Versuch die Lösungen mit kohlensaurem Natron schwach alkalisch gemacht. Die Kölbchen blieben dieses Mal nur 18 Stunden im Brutschrank stehen. Nachdem dieselben 4 Stunden im Brutschrank gestanden, war bereits eine Trübung eingetreten. Die Analyse wurde in derselben Weise ausgeführt wie bei Versuch VIII. Während des Sterilisirens waren 12,17% Harnstoff zersetzt, wie die Analyse des Kölbchen a ergab. Das Resultat dieses Versuches zeigt die folgende Tabelle:

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlkölbchen nicht geimpft	a. 12,17			
Mit Proteus geimpft	b. 12,17	32,19	20,02	alkalisch
	c. 12,17	33,31	21,14	„
	d. 12,17	33,00	20,83	„
	e. 12,17	33,26	21,09	„

Versuch X.

Kölbchen a enthielt eine reine 1% Harnstoff-Lösung und diente zur Controle, für die durch das Sterilisiren hervorgerufene Zersetzung. Die Kölbchen b, c, d und e erhielten einen Zusatz von 0,5% Kochsalz, 0,02% Harnsäure und wurden mit Na_2CO_3 schwach alkalisch gemacht. Sterilisirt wurden alle 5 Kölbchen 30 Minuten lang. Die Kölbchen b, c, d und e wurden mit je zwei Oesen Proteus geimpft und 24 Stunden lang in den Brutschrank gestellt. Beim Sterilisiren wurden 12,15% Harnstoff zersetzt. Da beim Titriren mit salpetersaurem Quecksilberoxyd auch Harnsäure mit gefällt wird, so erhielt man in diesem Falle nicht die Menge des Harnstoffes, sondern die Gesammtmenge des Harnstickstoffes in Harnstoff ausgedrückt. Die Stickstoffmenge der angewandten Harnsäure wird abgezogen und die Differenz des Harnstickstoffes wird wieder in Harnstoff umgerechnet. Das Resultat dieses Versuches ergiebt sich aus beifolgender Tabelle:

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlversuch nicht geimpft	a. 12,15			
Mit Proteus geimpft	b. 12,15	22,23	10.08	alkalisch
	c. 12,15	22,09	9,94	„
	d. 12,15	22,27	10,12	„
	e. 12,15	22,22	10,07	„

Versuch XI.

Kölbchen a diente als Controlversuch für die durch das Sterilisiren erfolgte Zersetzung und die Analyse zeigte, dass 12,16% Harnstoff zersetzt waren.

Die Kölbchen b, c, d und e erhielten einen Zusatz von 1% Pepton, 0,5% Kochsalz und 0,1% Magnesiumsulfat. Der Inhalt von Kölbchen b und c reagierte neutral, während der von Kölbchen d und e mit Na_2Co_3 schwach alkalisch gemacht worden war. Alle 5 Kölbchen wurden 30 Minuten lang sterilisirt. Kölbchen b, c, d und e wurden mit je 2 Oesen Proteus geimpft und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach 4 Stunden zeigte Kölbchen d und e bereits eine geringe Trübung, während der Inhalt der Kölbchen a und b äusserlich noch keine Veränderung zeigte.

Eine Trübung in Kölbchen b und c konnte erst nach 6 Stunden constatiert werden. Die Analyse der Kölbchen b, c, d und e wurde nach 24 Stunden ausgeführt. Da Pepton bei diesem Versuche dabei war, so musste der unzersetzt gebliebene Harnstoff bestimmt werden. Zu diesem Zwecke wurde das NaCl mittelst Silbernitrat gefällt — wie oben angegeben wurde — und filtrirt. Im Filtrat wurde dann die H_2SO_4 mittelst Barytlösung entfernt. Hierauf wurde dann der Harnstoff titrit. Das Resultat ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

	Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlversuch nicht geimpft	a. 12,16			
Mit Proteus geimpft	b. 12,16	25.92	13,76	neutral
	c. 12.16	26,17	14,01	„
	d. 12,16	31,40	19,24	alkalisch
	e. 12,16	31,12	18,96	„

Versuch XII.

Von fünf Kölbchen (a, b, c, d, e) enthielt a die zur Controle bestimmte Harnstofflösung, während Kölbchen b, c, d und e einen Zusatz von 0,5% Kochsalz, $^1/_{10}$% Magnesiumsulfat und $^1/_{10}$% saures phosphorsaures Natrium erhielten. Der Inhalt der Kölbchen b und c reagierte sauer, dagegen wurde die Lösung in d und e mit Na_2CO_3 schwach alkalisch gemacht. Nachdem die Kölbchen 30 Minuten lang sterilisirt waren, wurden b, c, d und e mit je 2 Oesen Potreus geimpft und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Das Controlkölbchen a zeigte dass beim Sterilisiren 12,19% Harnstoff zersetzt waren. Die Kölbchen b, c, d und e wurden mittelst Mercurinitrat titrirt, nachdem zuvor das NaCl durch Silbernitrat und die Phosphor- nebst Schwefelsäure durch Barytlösung entfernt worden war. Bei einem Controlversuch wurde das Ammoniak bestimmt und in Harnstoff umgerechnet. Es wurde etwas trocknes Calciumhydroxyd hinzugefügt um das Ammoniak frei zu machen. Die quantitative Bestimmung des Ammoniaks erfolgt durch Titration mittelst Normalsalzsäure. Als Indicator diente Cochenilletinctur. Ein Cubiccentimeter Normalsäure entspricht gleich 0,017 NH_3. Das Resultat war dasselbe und ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

		Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlversuch nicht geimpft	a.	12,19			
Mit Proteus geimpft	b.	12,19	12,19	—	sauer
	c.	12,19	12,19	—	„
	d.	12,19	17,35	5,16	alkalisch
	e.	12,19	17,07	4,88	„

Dieser Versuch zeigt somit, dass bei Gegenwart von Phosphorsäure allein keine Zersetzung des Harnstoffes eintritt, wohl aber eine langsame Zersetzung des Harnstoffes stattfindet wenn die Phosphorsäure mit kohlensaurem Natron abgestumpft wird.

Versuch XIII.

Alle 5 Kölbchen enthielten die 1% Harnstoff-Lösung, wovon die Kölbchen b—e mit kohlensaurem Natron schwach alkalisch gemacht wurden und dann 30 Minuten lang sterilisirt. Nach dem Sterilisiren wurden die Kölbchen b—e mit je zwei Oesen Proteus geimpft und 48 Stunden lang in den Brutschrank gestellt. In Kölbchen a waren 12,17% Harnstoff durch das Sterilisiren zersetzt. Die Resultate dieses Versuches giebt folgende Tabelle an:

		Beim Sterilisiren zersetzter Harnstoff in %	Zersetzter Harnstoff in %	Durch Proteus zersetzter Harnstoff in %	Reaction der Lösung
Controlkölbchen nicht geimpft	a.	12,17			
Mit Proteus geimpft	b.	12,17	26,34	14,17	alkalisch
	c.	12,17	26,11	13,94	„
	d.	12,17	26,00	13,83	„
	e.	12,17	26,29	14,12	„

Ein Controlversuch, als Beweis, dass in den erwähnten Fällen der Harnstoff nur durch Proteus zersetzt wird und nicht durch irgend einen anderen Umstand, wurde in folgender Weise ausgeführt.

Kölbchen a und b enthielten eine reine Harnstofflösung, c und d erhielten ausserdem noch einen Zusatz von 1% Pepton, e und f einen Zusatz von 0,5% Kochsalz und g einen Zusatz von 1% Pepton und 0,5% Kochsalz. Diese 7 Kölbchen wurden 45 Minuten lang sterilisirt und b—g blieben zehn Tage lang im Brutschrank stehen. Kölbchen a wurde gleich nach dem Sterilisiren analysiert und ergab eine Zersetzung von 13,76%. Kölbchen b, welches auch nur die 1% Harnstofflösung enthielt und 10 Tage lang im Brutschrank gestanden hatte, zeigte bei der Analyse ebenfalls nur eine Zersetzung von 13,76%. Ebenso ergab die Analyse der Kölbchen c—g als Resultat nur eine Zersetzung von 13,76%. Es hatte also keine weitere Zersetzung stattgefunden. Dieser Versuch beweist ebenfalls, dass die weitere Zersetzung des Harnstoffes in den geimpften Kölbchen, auch bei Anwesenheit anderer Stoffe, nur durch Proteus veranlasst wurde.

Versuch XIV.

Zur Verwendung kamen 5 Kölbchen (a, b, c, d, e). Kölbchen b—e erhielten einen Zusatz von 1% Traubenzucker. Alle 5 Kölbchen wurden 30 Minuten lang sterilisirt und nach dem Erkalten wurden Kölbchen b—e mit je zwei Oesen Proteus geimpft und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt, wobei sich eine bedeutende Trübung zeigte. Im Controlkölbchen a waren während des Sterilisirens 12,15% Harnstoff zersetzt. Die Analyse der Kölbchen b—e ergab ebenfalls eine Zersetzung von 12,15% Harnstoff. Es war also keine weitere Zersetzung eingetreten, denn die Zersetzung von 12,15% war durch das Sterilisiren hervorgerufen.

Ein Gelatine-Plattenguss mit dieser Lösung geimpft, zeigte schon nach 12 Stunden ein beträchtliches Wachsthum von Proteus.

Proteus hatte sich also in der zuckerhaltigen Lösung zwar bedeutend vermehrt, ohne jedoch in der Lösung den Harnstoff zu zersetzen.

Ein weiterer Versuch wurde noch vorgenommen, indem anstatt 1% Traubenzucker deren 5% zugesetzt wurde. Das Resultat war dasselbe. Wie die Vorversuche gezeigt haben, zersetzt sich der Harnstoff beim Sterilisiren in einem ganz gleichbleibenden Verhältnis, desgleichen tritt keine weitere Zersetzung beim Stehen im Brutschrank ein. Nachdem das Quantum Harnstoff, welches beim Sterilisiren zersetzt war, von dem nach Beendigung des Versuches zersetzten Harnstoff abgezogen war, musste daher der Rest der Zersetzung unbedingt der Proteus-Wirkung zugeschrieben werden; denn die Anwesenheit anderer Bacterien war in sämmtlichen Versuchen nach den Ergebnissen der Culturverfahren völlig ausgeschlossen.

Aus allen diesen Versuchen geht demnach in Uebereinstimmung mit Schnitzler[1]) und Hofmeister in unzweideutiger Weise hervor, dass Proteus Hsr. thatsächlich[2]) ein energischer Harnstoff-Zersetzer ist.

Zum Schluss erlaube ich mir Herrn Prof. Dr. Hauser für die Anregung an dieser Arbeit, sowie für die mir zu Theil gewordene Unterstützung meinen tiefgefühltesten Dank auszusprechen.

---

[1]) l. c.
[2]) l. c.

Lebenslauf.

Verfasser, Arnold Brodmeier, wurde am 16. Mai 1863 in Schwerborn bei Erfurt geboren und ist der Sohn des Pfarrers Karl Lebrecht Traugott Brodmeier und dessen Ehefrau Bertha Cäcilie Adelheid Brodmeier, geborene Fischer. Er besuchte das Realgymnasium zu Jena und das Gymnasium zu Weimar bis zur Prima, welches er dann verliess, um sich der pharmaceutischen Carriere zu widmen. Im Wintersemester 1891/92 besuchte er die Universität zu München, woselbst er im Sommersemester 1893 das Staatsexamen als Apotheker machte. Nach dem Staatsexamen studierte er noch zwei Semester Chemie in München und zwei weitere Semester Bakteriologie in Erlangen, woselbst er auch im Februar 1895 zum Dr. philos. promoviert wurde.